

## ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТАБЛЕТОК ГАМИМАКСА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОПОРОЗЕ

ХОМЕНКО А.И.\*\*\*, РЖЕУССКИЙ С.Э., ЖУХАРЕВ Ю.С.\*, КУГАЧ В.В., ГОЛУТВИНА Н.О.\*\*\*

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
Белорусская медицинская академия последипломного образования\*,  
Национальная антидопинговая лаборатория Республики Беларусь\*\*,  
Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии\*\*\**

**Резюме.** В статье представлены результаты исследования влияния таблеток гамимакса на процессы ремоделирования костной ткани при экспериментальном остеопорозе. В результате биохимических исследований на 100 белых крысах-самках установлено, что таблетки гамимакса обладают специфической активностью по отношению к костной ткани: снижают резорбцию минеральной фазы, способствуют повышению минерализации, снижают долю водной фазы. Морфологическими исследованиями доказано, что уже через 3 месяца после начала лечения гамимаксом отмечается активация образования молодого костного вещества, что проявляется в увеличении толщины поперечника костных балок по периферии.

**Ключевые слова:** натрия алендронат, остеопороз, кость, минерализация.

**Abstract.** In this article the research results of the influence of the tablets Gamimax on bone tissue restoration processes in experimental osteoporosis are presented. As a result of biochemical researches on 100 white female rats it has been established, that the tablets Gamimax possess specific activity in relation to bone tissue: they reduce resorption of the mineral phase, promote the increase of mineralization, reduce the water phase share. By means of morphological researches it has been proved, that in 3 months after the beginning of treatment with Gamimax activation of young bone substance formation is observed that manifests itself in the increase of the thickness of bone beams diameter on the periphery.

По данным ВОЗ, в настоящее время проблемы ранней диагностики, лечения и профилактики остеопороза занимают четвертое место по значимости среди неинфекционных заболеваний, уступая болезням сердечно-сосудистой системы, онкологической патологии и сахарному диабету [1]. Масштабы остеопороза настолько значительны, что по инициативе ВОЗ 20 октября ежегодно отмечается Всемирный День борьбы с остеопорозом в целях привлечения повышенного вни-

мания общественности и государственных структур к данному заболеванию.

Костная ткань на 65-70% состоит из минеральных компонентов, на 30-35% – из органических [2]. В организме постоянно происходят процессы обновления костной ткани путем костеобразования и рассасывания (резорбции) кости. Костеобразование осуществляется клетками-остеобластами, синтезирующими органический матрикс кости и участвующими в кальцификации. Функцию синтеза органических компонентов и стабилизации минерального состава кости выполняют также зрелые клетки костной ткани, образующиеся из остеобластов [3].

*Адрес для корреспонденции:* 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, д. 27, Витебский государственный медицинский университет, кафедра организации и экономики фармации. – Ржеусский С.Э.

Рассасывание минерального костного матрикса осуществляют клетки-остеокласты. Активность остеобластов и остеокластов обеспечивает постоянство состава костной ткани [3].

Остеопороз сопровождается значительным уменьшением количества остеобластов в костной ткани, снижением остеобластогенеза, уменьшением продолжительности жизни остеоцитов и, как следствие, низкой минеральной плотностью костей [4]. Потеря костной массы и нарушения структуры костной ткани приводят к значительному увеличению хрупкости костей и возможности их переломов [5, 6]. Наибольшую опасность представляет перелом шейки бедра, требующий длительной госпитализации, как правило, оперативного вмешательства, приводящий к значительной инвалидизации и смертности пациентов.

Терапия остеопороза преследует цель угнетения процессов костной резорбции, стимуляции костеобразования или нормализации процессов ремоделирования, стабилизации минерального обмена [7].

Современная фармакотерапия остеопороза включает применение многочисленных групп лекарственных средств [8]. Наиболее эффективными из них оказались производные бисфосфонатов, которые условно разбиты на 3 поколения. Наибольший интерес представляют бисфосфонаты второго поколения [9,10,11], представителем которого является натрия алендронат. В Республике Беларусь был проведен оригинальный синтез этой фармацевтической субстанции (руководитель З.И. Куваева), таблетки из которого получили лабораторный шифр «гамимакс».

Целью настоящего исследования является изучение влияния гамимакса на ремоделирование костной ткани при экспериментальном остеопорозе.

### Методы

Для экспериментального моделирования остеопороза применяли модель овариэктомии крыс-самок [12]. В эксперименте использовали 100 белых крыс-самок массой 240-280 г, разбитых на 3 группы: 1 группа (10 крыс) – интактные животные, 2 группа (45 крыс) –

контрольная и 3 группа (45 крыс) – экспериментальная. Анестезию животным проводили внутривентральным введением фентанила с дроперидолом из расчета по 0,13 мг на кг массы тела. После наступления глубокой стадии наркоза крыс помещали на предметный хирургический столик в положении на живот. Верхние и нижние конечности фиксировали. Экспериментальной группе крыс (группа №3) в подвздошной части тела справа и слева рассекали кожу, подкожную клетчатку, мышцы, брюшину. В рану вводили пинцет, на стерильную салфетку из раны выводили сальник, в котором находили яичники. Их фиксировали, перевязывали шелком и в последующем отсекали. Сальник заправляли в брюшную полость, рану послойно ушивали. Контрольной группе животных (группа №2) проводили 2-сторонний разрез кожи, подкожной клетчатки, мышц и брюшины. Как в экспериментальной, так и в контрольной группах крыс во время проведения экспериментов гибели не отмечалось.

Через 24 часа после операции экспериментальной группе животных (группа №3) натошак ежедневно вводили гамимакс в дозе 25 мг/кг массы тела, что составляло 10% от ДЛ/16. Длительность курса проводимого лечения составляла 6 месяцев. Для суждения о характере морфологических и биохимических изменений, происходящих в костной ткани крыс контрольной и экспериментальной групп, на 1, 2, 3 и 6 месяц после проведенной операции и лечения гамимаксом животных выводили из опыта группами по 8-10 крыс. Указанные временные параметры позволили получить наиболее полную информацию о характере течения процессов ремоделирования после экспериментального остеопороза и влияния на эти процессы средства «гамимакс».

После декапитации животного выделяли правую большеберцовую кость, освобождали ее от мышц, сухожилий и надкостницы. Отделяли эпифизы кости от диафиза. Выделенную большеберцовую кость промывали охлажденной очищенной водой для полного удаления остатков крови и костного мозга в костномозговом канале. Промытую костную ткань сушили фильтровальной бумагой. Диафизарную часть разбивали и помещали в кар-

борундовый тигель, который был предварительно взвешен, после чего тигель с образцом ткани вновь взвешивали на аналитических весах, затем помещали в сушильный шкаф на 24 часа при температуре 120°C. После этого тигли с образцами высушенной ткани вновь взвешивали, а полученная разница позволяла определить содержание воды в исследуемых образцах.

Соотношение в содержании органического и неорганического матрикса кости определяли по ее зольности. С этой целью высушенную диафизарную часть кости взвешивали вместе с тиглем и сжигали в муфельной печи при температуре 700°C в течение 5-ти часов. Далее еще раз проводили взвешивание тиглей с образцами тканей [13].

Структуру костной ткани изучали методом микроскопии. Материал кости фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Декальцинацию костной ткани производили в 10% растворе муравьиной кислоты, нейтрализовали материал в 5% растворе квасцов, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, заливали в парафиновые блоки. Микропрепараты окрашивали гематоксилином и эозином.

Результаты исследований кости экспериментальных животных сравнивали с результатами исследования кости контрольной и интактной групп.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью компьютерной программы Microsoft Excel [14].

### Результаты и их обсуждение

Результаты исследования составляющих компонентов костной ткани (водной, органической и неорганической фазы) представлены в таблице 1.

Установлено, что в группах с экспериментальным остеопорозом (группы №2 и №3), по сравнению с интактными животными (группа №1), наблюдали изменения во всех исследуемых компонентах костной ткани.

В группе №2 отмечали увеличение водной фазы, которая ко второму месяцу эксперимента без лечения достигала 24,13% ( $p < 0,05 = 0,0003$ ), после чего оставалась стабильной. Показано, что при лечении гамимаксом (группа №3) в течение двух месяцев также происходит увеличение водной фазы, однако уже к 3-у месяцу ее уровень возвращается в пределы нормы ( $p > 0,05 = 0,37$ ) (рис. 1).

Отмечали снижение процентного содержания неорганической фазы в первые два месяца после операции как при лечении гамимаксом (группа №3), так и без него (группа №2). Однако, если без лечения этот уровень оставался стабильным и в последующие месяцы – со 2-го по 6-й ( $p > 0,05$ , рис 2, кривая а),

Таблица 1

**Содержание водной, органической и неорганической фазы в костной ткани овариэктомированных крыс-самок после проведенного лечения гамимаксом (в % к контролю, интактная кость)**

Время эксперимента, месяцы	Группа	Водная фаза, %	Органическая фаза, %	Неорганическая фаза, %
0	Интактные животные	8,62±1,14	25,08±0,45	64,32±0,21
1	Контрольная	22,39±4,34	34,19±2,98	43,42±3,61
	Экспериментальная	18,01±5,99	36,30±4,71	45,69±3,46
2	Контрольная	24,13±3,28	33,18±4,11	42,69±2,99
	Экспериментальная	20,67±8,37	37,46±3,08	41,86±8,40
3	Контрольная	23,49±4,43	34,49±2,62	42,02±5,16
	Экспериментальная	11,71±4,72	37,64±2,86	53,57±4,60
6	Контрольная	23,34±2,14	35,24±1,40	41,42±1,59
	Экспериментальная	11,02±4,36	38,72±1,18	50,26±5,40

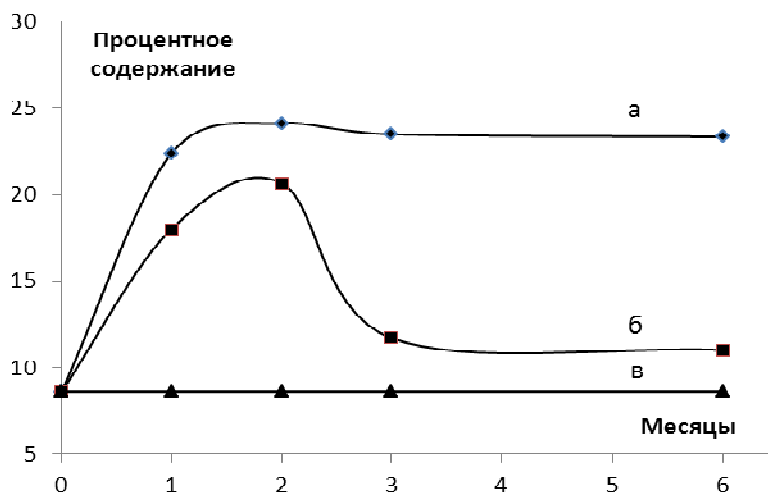


Рис. 1. Изменение водной фазы кости при овариэктомии крыс без лечения (кривая а) и при лечении гаммамаксом (кривая б) по сравнению с интактной костью (кривая в).

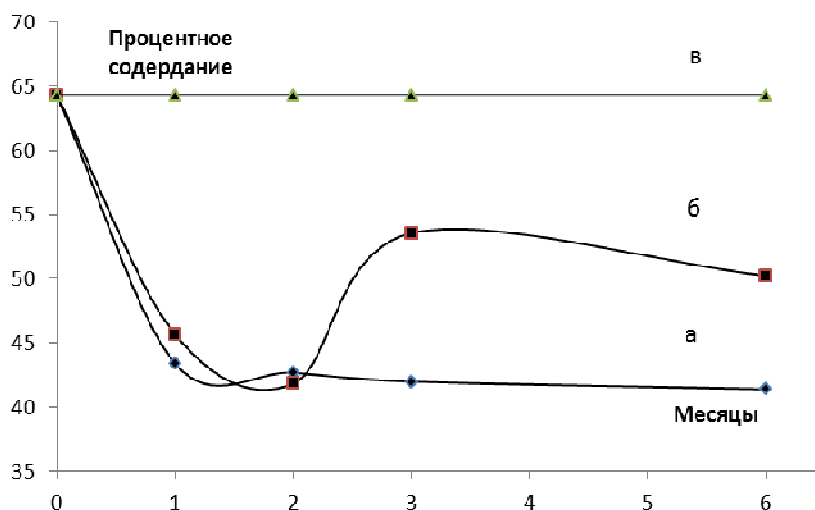


Рис. 2. Изменение неорганической фазы кости при овариэктомии крыс без лечения (кривая а) и при лечении гаммамаксом (кривая б) по сравнению с интактной костью (кривая в).

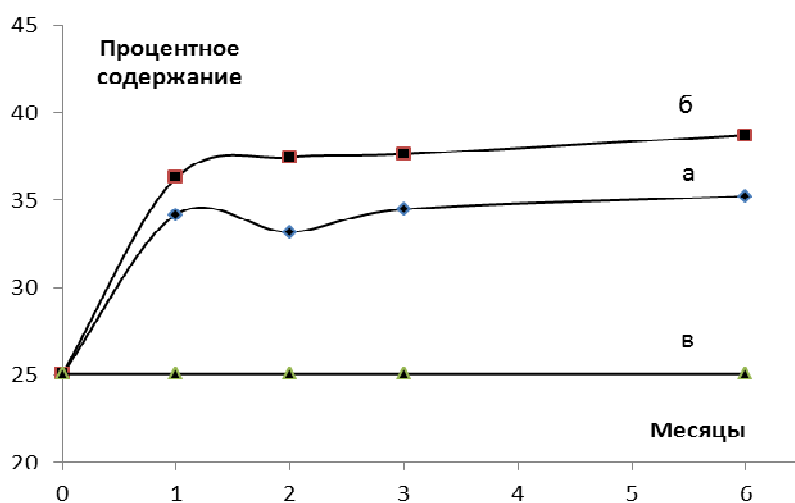


Рис. 3. Изменение содержания органической фазы кости при овариэктомии крыс без лечения (кривая а) и при лечении гаммамаксом (кривая б) по сравнению с интактной костью (кривая в).





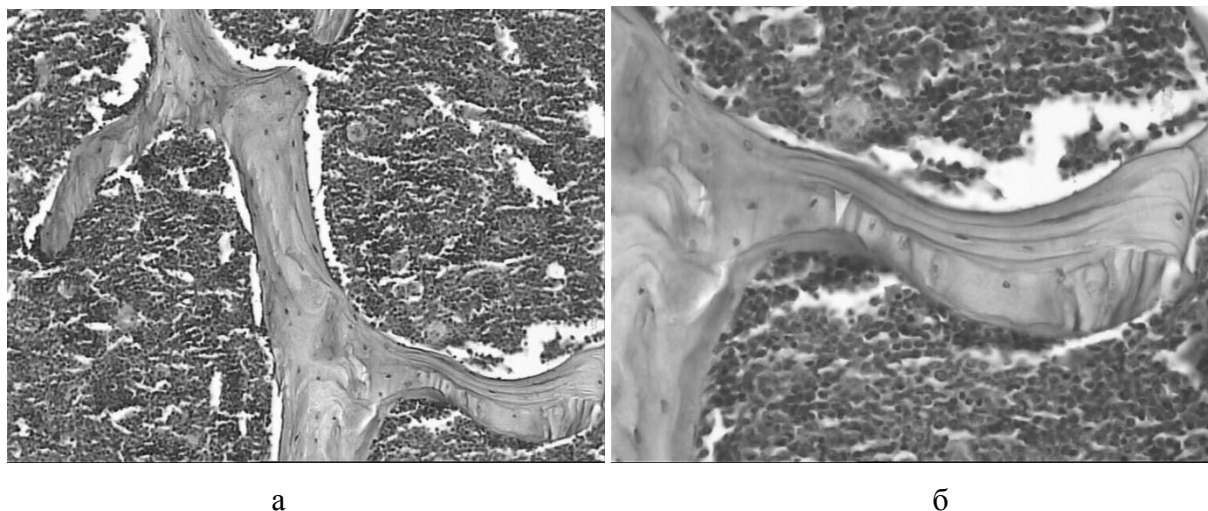


Рис. 6. Диафиз большеберцовой кости после 3 месяцев лечения гаммамаксом. Окраска гематоксилином и эозином. Видны четкие линии склеивания и образование молодого костного вещества. Микрофото: а) увеличение \*200; б) увеличение \*400.

личие четких линий склеивания в костных балках и образование молодого костного вещества (рис. 6).

### Заключение

В результате проведенных экспериментальных исследований на лабораторных животных выявлено, что таблетки гаммамакса обладают специфической активностью по отношению к костной ткани: снижают резорбцию минеральной фазы костной ткани в условиях экспериментального остеопороза, способствуют повышению минерализации костной ткани, снижая долю водной фазы в общей массе костной ткани.

Морфологическими исследованиями установлено, что уже через 3 месяца после начала лечения гаммамаксом отмечается активация образования молодого костного вещества, что проявилось в увеличении толщины поперечника костных балок по периферии.

### Литература

1. Овчинникова, Л.К. Остеопороз: современный взгляд на проблему/ Л.К. Овчинникова // Новая аптека, 2006, № 11. – С. 17-20.
2. Руденко, Э.В. Остеопороз: диагностика, профилактика и лечение / Э.В. Руденко. – Минск: Бел. наука, 2001. – 153 с.
3. Как образуется и обновляется костная ткань // Электронный ресурс. – Режим доступа <http://nsp.zaporizhzhhe.ua/index.htm>. – Дата доступа 09.06.2010.
4. Торопцова, Н.В. Остеопороз: роль алендроната в лечении и профилактике заболевания/ Н.В. Торопцова // Consilium Medicum, том 10 / Женское здоровье, 2008, №6. – С. 16-18.
5. Беневоленская, Л.И. Клинические рекомендации. Остеопороз. Диагностика, профилактика и лечение/ Л.И. Беневоленская, О.М. Лесняк. – М.: ГЭОТАР – Медиа. – 2009. – 176 с.
6. Schneider, E.L., Guralnik, J.M. The aging of America: Impact on health care costs. // JAMA. 1990. – V. 263. P.2335-2350.
7. Зоткин, Е.Г. Возможности лекарственной терапии системного остеопороза / Е.Г. Зоткин, В.И. Мазуров // Терра Медика Нова, 2000, №4. – С. 10-12.
8. Heaney, R.P. Advances in therapy for osteoporosis / R.P. Heaney // Clin. Med. Res. – 2003. – №1. – P. 93–99.
9. Остеопороз. Диагностика, профилактика и лечение. Клинические рекомендации / под ред. Л.И. Беневоленской, О.М. Лесняк. – М.: ГЭОТАР, 2005. – 176 с.
10. Шварц, Г.Я. Фармакотерапия остеопороза / Г.Я. Шварц. – М.: Медицинское информационное агентство, 2002. – 285 с.
11. Насонов, Е.Л. Фармакотерапия остеопороза: возможности использования бисфосфонатов / Е.Л. Насонов, И.А. Скрипникова, Л.И. Беневоленская, В.А. Насонова. // Клин. медицина, 1996, №9. – С. 16-22
12. Friedman, R.J. Animal models in orthopedic research. – CRC/ Press LLC. – 1999. – 604 p.
13. Слуцкий, Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани / Л.И. Слуцкий. – Ленинградское отделение, «Медицина». – 1969. – 374 с.
14. Теслюк, И.Е. Статистика / И.Е. Теслюк. – Минск, «Ураджай». – 2000. – 360 с.

Поступила 21.08.2010 г.

Принята в печать 02.09.2010 г.